

EUROPEAN PATENT OFFICE

31

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 59126529
PUBLICATION DATE : 21-07-84

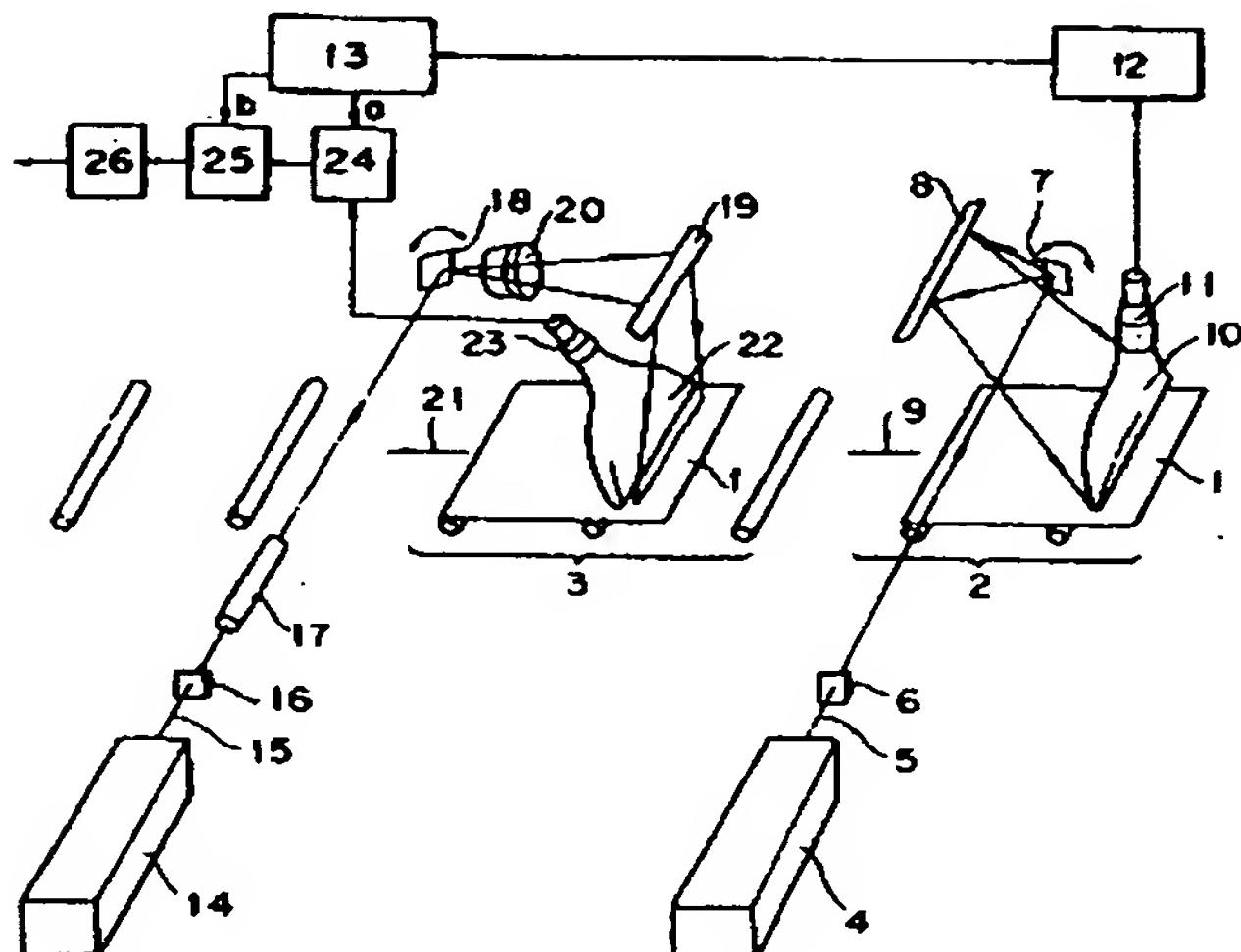
APPLICATION DATE : 08-01-83
APPLICATION NUMBER : 58001328

APPLICANT : FUJI PHOTO FILM CO LTD:

INVENTOR : HISHINUMA KAZUHIRO;

INT.CL. : G03B 41/16 G01N 33/50 G01T 1/00 //
G01N 27/26 G21H 5/00

**TITLE : SIGNAL PROCESSING METHOD IN
AUTORADIOGRAPHY**



ABSTRACT : PURPOSE: To enable the detection of highly accurate positional information on a medium of a radioactive marking material by obtaining the positional information on said medium as a digital signal and subjecting the signal to special processing and utilizing a method for determining the scanning direction for the purpose of detection of sampling point.

CONSTITUTION: The accelerated luminous light from a phosphor sheet is conducted to the inside of a photoconductive sheet 10 and arrives at an exit face from which said light is received in a detector 11. The accelerated luminous light detected by said detector is converted to an electrical signal which is inputted via an amplifier 12 to a control circuit 13. A signal of an adequate level according to the obtained and accumulated recording information is obtd. in the circuit 13. The graph differentiating the graph shown in the figure is obtd., by which the detection thereof is made easy. More specifically, the edge in the separating and developing row can be stressed by subjecting the signal to a differential calculation and therefore both ends in the transverse direction of the separating and developing row can be detected easily on the digital image data. If the distribution point of the radioactive marking material is made, for example, midpoint of both edges, said material is easily detected.

COPYRIGHT: (C)1984,JPO&Japio

⑯ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59-126529

⑤Int. Cl.³
 G 03 B 41/16
 G 01 N 33/50
 G 01 T 1/00
 // G 01 N 27/26
 G 21 H 5/00

識別記号

厅内整理番号
 7036-2H
 Z 8305-2G
 8105-2G
 A 7363-2G
 8204-2G

⑬公開 昭和59年(1984)7月21日

発明の数 1
 審査請求 未請求

(全 12 頁)

⑭オートラジオグラフィーにおける信号処理方法

8番地富士写真フィルム株式会社内

⑯特 願 昭58-1328
 ⑰出 願 昭58(1983)1月8日
 ⑯発明者 白石久司

⑯発明者

菱沼和弘
 神奈川県足柄上郡開成町宮台79
 8番地富士写真フィルム株式会社内

⑯発明者 木村力
 神奈川県足柄上郡開成町宮台79

⑰出願人

富士写真フィルム株式会社
 南足柄市中沼210番地

⑯代理 人 弁理士 柳川泰男

明細書

1. 発明の名称

オートラジオグラフィーにおける
 信号処理方法

放射性標識物質の分布点をそれぞれ検出し、次に
 順に各走査上の放射性標識物質の分布点を結んで
 直線、折線または曲線からなる連続線を設定し
 この設定された連続線をサンプリング点検出の
 ための走査方向とすることを特徴とするオートラ
 ジオグラフィーにおける信号処理方法。

2. 特許請求の範囲

1. 支持媒体上において少なくとも一次元的方向に分布して分布列を形成している放射性標識物質から放出される放射線エネルギーを蓄積性蛍光体シートに吸収させることによって、この蓄積性蛍光体シートに該放射性標識物質の位置情報を有するオートラジオグラフを蓄積記録したのち、該蓄積性蛍光体シートを電磁波で走査して該オートラジオグラフを輝光として放出させ、そしてこの輝光を光電的に読み出すことにより得られる該オートラジオグラフに対応するデジタル信号について、

放射性標識物質の分布列を横断するように少なくとも二回デジタル画像データ上の異なる位置を走査して、各走査ごとに走査方向上の位置と信号のレベルとの関係を得ることにより、各走査上で

放射性標識物質の分布列を横断するようなくとも二回のデジタル画像データ上の異なる位置の走査を実質的に互いに平行に行なうこととする特許請求の範囲第1項記載のオートラジオグラフィーにおける信号処理方法。

3. デジタル画像データ上の走査位置と走査幅とを、測定対象の分布列の状態に応じて、信号処理前に設定することを特徴とする特許請求の範囲第1項もしくは第2項記載のオートラジオグラフィーにおける信号処理方法。

4. デジタル画像データ上の走査を二回行なうことにより一つの分布列について放射性標識物質の分布点を二箇所で検出し、この二つの分布点を結んで得られる直線をサンプリング点検出のため

の走査方向とすることを特徴とする特許請求の範囲第1項乃至第3項のいずれかの項記載のオートラジオグラフィーにおける信号処理方法。

5. 支持媒体上において分布列を形成している放射性標識物質が、支持媒体上において一次元的方向に分離展開された放射性標識の付与されている生体高分子物質、その誘導体もしくはそれらの分解物であることを特徴とする特許請求の範囲第1項乃至第4項のいずれかの項記載のオートラジオグラフィーにおける信号処理方法。

6. 生体高分子物質が、核酸、その誘導体もしくはそれらの分解物であることを特徴とする特許請求の範囲第5項記載のオートラジオグラフィーにおける信号処理方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、オートラジオグラフィーにおける信号処理方法に関するものである。さらに詳しくは、本発明は、オートラジオグラフィーにおいて、放射性標識物質の位置情報を記号および／または数値として得るためのデジタル信号処理における

のようなオートラジオグラフィーは、特に近年においてDNAなどの核酸の塩基配列の決定に有効に利用されている。

上述のように従来の放射線写真法を利用するオートラジオグラフィーでは、放射性標識物質の位置情報を得るためににはこの位置情報を有するオートラジオグラフを放射線写真フィルム上に可視化することが必須要件となっている。

従って、研究者は、その可視化されたオートラジオグラフを視覚的に観察することにより、支持媒体上の放射性標識物質の分布を判断している。そしてまた、視覚的に得られた放射性標識物質の位置情報を基にさらに種々の解析を加えることにより、放射性標識物質の特性、機能などの評価が行なわれている。

しかしながら、従来のオートラジオグラフィーでは、上述のようにその解析作業は人間の目に依存しているため、その可視画像とされたオートラジオグラフを解析して得られる放射性標識物質の位置情報が研究者によって相違する場合が発生す

走査方向の決定方法に関するものである。

支持媒体上において少なくとも一次元的方向に分布して分布列を形成している放射性標識物質の位置情報を得るための方法としてオートラジオグラフィーが既に知られている。

たとえば、蛋白質、核酸などのような生物体由来の高分子物質に放射性標識を付与したのち、その放射性標識を付した高分子物質、その誘導体、あるいはその分解物など（以下、放射性標識物質ともいう）をゲル状支持媒体上で電気泳動などの分離操作にかけて分離展開を行なうことにより、該支持媒体上に放射性標識物質の分離展開列を形成させ、次いでこの分離展開列を放射線フィルムに転写し可視化することにより、そのオートラジオグラフを可視画像として得て、この可視画像から放射性標識物質の位置情報を得ている。また、得られた放射性標識物質の位置情報を基にして、その高分子物質の分離、同定、あるいは高分子物質の分子量、特性の評価などを行なう方法は既に開発され、実際に利用されている。そして、上記

などの問題があり、得られる情報の精度には限界がある。特に、放射線フィルム上に可視化されたオートラジオグラフが良好な画質（鮮鋭度、コントラスト）を有していない場合には、満足できる情報が得られがたく、またその精度は低下する傾向にある。従来より、求める位置情報の精度を向上させるために、たとえば、その可視化されたオートラジオグラフをスキャニングデンシトメーターなどの測定器具を用いて測定する方法も利用されている。しかしながら、そのような測定器具を単に用いる方法においては精度の向上に限界がある。

たとえば、前記の分離展開列が形成された支持媒体と放射線フィルムとを密着させて行なわれる露光操作時にその重ね合わせにズレが生じる場合があり、この場合には放射線フィルム上に可視画像として得られる分離展開列（たとえば、泳動列）はフィルムの長さ方向に対して平行でなく、ずれる結果となるため、放射性標識物質の位置情報を視覚的に判断する際に誤差が生じやすくなり、

その精度は低下しがちである。また、支持媒体や分離展開条件によって、得られる分離展開列が支持媒体の長さ方向に対して平行でなかったり、歪んだりすることが往々にして生じる。

さらに、支持媒体としてゲルを用いる場合において、このゲルは自己支持性がないため通常はガラスなどで両面を扶持した状態で分離展開を行なうが、その被覆物の変形などによってゲルに厚さムラが生じたりすることがあり、放射性標識物質は支持媒体上で必ずしも一様に分離展開されるとは限らない。また同様な分離展開の不均一さはゲル中に空気泡が含まれている場合、あるいは、ゲルの組成が不均一であったりした場合においても発生する。このような理由から、たとえば、支持媒体の中央付近における分離展開列の移動距離に比べて両端の分離展開列の移動距離が相対的に短いといった、いわゆるスマイリング効果がしばしば現れる。あるいは、電気泳動により分離展開する場合において電圧が支持媒体に均一に印加されない場合があり、そのような場合にも分離展開条

件が支持媒体上で局部的に異なってくるため、得られる分離展開列に歪みが生じがちである。

以上のような場合においては、放射性標識物質の位置情報の解析が特に困難になり、前記のような測定器具を利用しても分離展開された放射性標識物質の位置情報を充分な精度で得ることは困難である。

本発明者は、従来のオートラジオグラフィーにおいて利用されている放射線フィルムを用いる放射線写真法の代りに、蓄積性蛍光体シートを用いる放射線像変換方法を利用することにより、放射性標識物質の位置情報を有するオートラジオグラフを特に画像化することなく、その位置情報をデジタル信号として得、そして得られたデジタル信号に特定の信号処理を施して、サンプリング点検出のための走査方向を決定する方法を利用することにより、支持媒体上の分離展開物の位置情報を高精度で得ることが可能となることを見出し、本発明に到達した。

本発明は、支持媒体上において少なくとも一次

元的方向に分布して分布列を形成している放射性標識物質から放出される放射線エネルギーを蓄積性蛍光体シートに吸収させることによって、この蓄積性蛍光体シートに該放射性標識物質の位置情報を有するオートラジオグラフを蓄積記録したのち、該蓄積性蛍光体シートを電磁波で走査して該オートラジオグラフを輝尻光として放出させ、そしてこの輝尻光を光電的に読み出すことにより得られる該オートラジオグラフに対応するデジタル信号について、

放射性標識物質の一次元的分布方向を横断するようなくとも二回デジタル画像データ上の異なる位置を走査して、各走査ごとに走査方向上の位置と信号のレベルとの関係を得ることにより、各走査上で放射性標識物質の分布点をそれぞれ検出し、次に、順に各走査上の放射性標識物質の分布点を結んで直線または曲線を得、得られた直線または曲線をサンプリング点検出のための走査方向とすることを特徴とするオートラジオグラフィーにおける信号処理方法を提供するものである。

すなわち、本発明は、試料と蓄積性蛍光体シートとを重ね合わせることによって試料から放出される放射線エネルギーを蓄積性蛍光体シートに吸収させたのち、この蓄積性蛍光体シートを可視光線および赤外線などの電磁波（励起光）で走査することにより、蓄積性蛍光体シートに蓄積されている放射線エネルギーを蛍光（輝尻発光）として放出させ、この蛍光を光電的に読み取って電気信号を得、この電気信号をA/D変換してデジタル信号として得ることからなる放射線像変換方法を利用するものである。

上記放射線像変換方法については、たとえば米国特許第3,859,527号明細書および特開昭55-12145号公報等に記載されている。

本発明に用いられる蓄積性蛍光体シートは、たとえば、二価のユーロビウム賦活アルカリ土類金属弗化ハロゲン化物系蛍光体などの輝尻性蛍光体を含有するものである。この輝尻性蛍光体は、X線、 α 線、 β 線、 γ 線、紫外線などの放射線の照射を受けてその放射線エネルギーの一部を蓄積し

たのち、可視光線および赤外線などの電磁波（励起光）の照射を受けるとその蓄積エネルギーに応じて輝光を示す性質を有している。

そして本発明は、上記の蓄積性蛍光体シートを用いる放射線像変換方法により、放射性標識物質の位置情報を特に画像化を経由することなく直接に、一定レベルを有するデジタル信号として得るものである。

なお、本発明において「位置情報」とは、試料中における放射性標識物質もしくはその集合体の位置を中心とする各種の情報、たとえば、支持媒体中に存在する放射性物質の集合体の存在位置と形状、その位置における放射性物質の濃度、分布などからなる情報の一つもしくは任意の組合せとして得られる各種の情報を意味する。

本発明によれば、前述のような支持媒体上における放射性標識物質の分離展開時の位置的な歪み、あるいは一次元的方向に分布して分布列を形成している放射性標識物質のオートラジオグラフを蓄積性蛍光体シートへの転写する操作における位

放射性標識物質が一次元的方向に分離展開された支持媒体を擧げることができる。放射性標識物質の例としては、放射性標識が付与された生体高分子物質、その誘導体もしくはそれらの分解物を擧げることができる。

たとえば、本発明は、放射性標識が付与された生体高分子物質が、蛋白質、核酸、それらの誘導体、それらの分解物のような高分子物質である場合には、これらの生体高分子物質の分離、同定などに有用なものである。さらに、これらの生体高分子物質の全体的あるいは部分的な分子量、または、それらの分子構造あるいはそれらの基本単位構成などの解析に本発明は有効に利用することができる。特に、DNAなどの核酸の塩基配列の決定において非常に有効なものである。

また、放射性標識物質を支持媒体を用いて分離展開するための方法としては、たとえば、ゲル状支持媒体（形状は層状、柱状など任意）、アセテートなどのポリマー成形体、あるいは滤紙などの各種の支持媒体を用いる電気泳動、そしてシリカ

置ズレなどにより、蓄積性蛍光体シート上に転写蓄積されたオートラジオグラフ全体にわたって歪み、ズレが生じている場合にも、その一次元的分布（分離展開）方向を自動的に見出して、サンプリング点検出のための走査方向とすることができるものであり、この走査方向に沿って放射性標識物質の分布列の位置情報を高精度で得ることを可能にするものである。また、オートラジオグラフが一次元的方向に複数の分布列をもって分布している放射性標識物質からなる場合において、個々の列の歪み等に対しても、その一次元的分布方向を正確に見出して走査方向とすることができるものである。

本発明において、分布列とは、たとえば、電気泳動操作により得られる泳動列のように、放射性標識物質が帯状あるいはスポット状をなして一方に向かって点在している列をいう。また、デジタル画像データとは、放射性標識物質のオートラジオグラフに対応するデジタル信号の集合体を意味する。

本発明において用いられる試料の例としては、

ゲルなどの支持媒体を用いる薄層クロマトグラフィーがその代表的な方法として挙げられるが、分離展開方法はこれらの方に限定されるものではない。

ただし、本発明に用いることのできる試料は上記の試料に限られるものではなく、少なくとも一次元的方向に分布している放射性標識物質を含有する支持媒体であって、かつ蓄積性蛍光体シートにその放射性標識物質の位置情報を有するオートラジオグラフを蓄積記録することができるものであればいかなるものであってもよい。

本発明に用いられる蓄積性蛍光体シートは、基本構造として、支持体、蛍光体層および透明保護膜とからなるものである。蛍光体層は、輝光性蛍光体を分散状態で含有する結合剤からなり、たとえば、二価のユーロビウム賦活ヨウ化バリウム（Ba²⁺Eu³⁺）蛍光体粒子をニトロセルロースと線状ポリエチレンとの混合物中に分散含有させて得られる。蓄積性蛍光体シートは、たとえば、支持体としてポリエチレンテレフタレ

ートなどのシートを用い、このシート上に上記蛍光体層を設け、さらに蛍光体層上に保護膜としてポリエチレンテレフタレートシートなどを設けたものである。

本発明において、放射性標識物質を含有する支持媒体から放出される放射線エネルギーの蓄積性蛍光体シートへの転写蓄積操作（録光操作）は、支持媒体と蓄積性蛍光体シートとを一定時間重ね合わせることにより、その支持媒体上の放射性標識物質から放出される放射線の少なくとも一部を蓄積性蛍光体シートに吸収させて実施する。この録光操作は、支持媒体と蓄積性蛍光体シートとが近接した状態で配置されればよく、たとえば、常温もしくは低温で少なくとも数秒間この状態に置くことにより行なうことができる。

なお、蓄積性蛍光体シートおよび録光操作の詳細については、本出願人による特願昭57-193418号明細書に記載されている。

次に、本発明において、蓄積性蛍光体シートに転写蓄積された支持媒体上の放射性標識物質の一

ノミラー等の光偏向器7により偏光処理され、平面反射鏡8により反射されたのち蛍光体シート1上に一次元的に偏光して入射する。ここで用いるレーザー光源4は、そのレーザー光5の波長領域が、蛍光体シート1から発する輝光発光の主要波長領域と重複しないように選択される。

蛍光体シート1は、上記の偏光レーザー光の照射下において、矢印9の方向に移送される。従って、蛍光体シート1の全面にわたって偏光レーザー光が照射されるようになる。なお、レーザー光源4の出力、レーザー光5のビーム径、レーザー光5の走査速度、蛍光体シート1の移送速度については、先読み操作のレーザー光5のエネルギーが本読み操作に用いられるエネルギーよりも小さくなるように調整される。

蛍光体シート1は、上記のようなレーザー光の照射を受けると、蓄積記録されている放射線エネルギーに比例する光量の輝光発光を示し、この光は先読み用導光性シート10に入射する。この導光性シート10はその入射面が直線状で、蛍光体

次元的な位置情報を読み出してデジタル信号に変換するための方法について、添付図面の第1図に示した読み出装置（あるいは読み取装置）の例を参照しながら略述する。

第1図は、蓄積性蛍光体シート（以下においては、蛍光体シートと略記することもある）1に蓄積記録されている放射性標識物質の一次元的な位置情報を仮に読み出すための先読み用読み出部2と、放射性標識物質の位置情報を出力するための蛍光体シート1に蓄積記録されているオートラジオグラフを読み出す機能を有する本読み用読み出部3から構成される読み出装置の例の概略図を示している。

先読み用読み出部2においては次のような先読み操作が行なわれる。

レーザー光源4から発生したレーザー光5はフィルター6を通過することにより、このレーザー光5による励起に応じて蛍光体シート1から発生する輝光発光の波長領域に該当する波長領域の部分がカットされる。次いでレーザー光は、ガルバ

シート1上の走査線に対向するように近接して配置されており、その射出面は円環を形成し、フォトマトリクスなどの光検出器11の受光面に連絡している。この導光性シート10は、たとえばアクリル系合成樹脂などの透明な熱可塑性樹脂シートを加工してつくられたもので、入射面より入射した光がその内部において全反射しながら射出面へ伝達されるように構成されている。蛍光体シート1からの輝光発光はこの導光性シート10内を導かれて射出面に到達し、その射出面から射出されて光検出器11に受光される。

光検出器11の受光面には、輝光発光の波長領域の光のみを透過し、励起光（レーザー光）の波長領域の光をカットするフィルターが貼着され、輝光発光のみを検出しうるようになっている。光検出器11により検出された輝光発光は電気信号に変換され、さらに増幅器12により増幅され出力される。増幅器12から出力された蓄積記録情報は、本読み用読み出部3の制御回路13に入力される。制御回路13は、得られた蓄積記録情報に

応じて、適正レベルの信号が得られるように、増幅率設定値 a および収録スケールファクター b を出力する。

以上のようにして先読み操作が終了した蛍光体シート 1 は本読み用読出部 3 へ移送される。

本読み用読出部 3 においては次のような本読み操作が行なわれる。

本読み用レーザー光源 14 から発せられたレーザー光 15 は、前述のフィルター 6 と同様な機能を有するフィルター 16 を通過したのちビーム・エクスパンダー 17 によりビーム径の大きさが厳密に調整される。次いでレーザー光は、ガルバノミラー等の光偏光器 18 により偏光処理され、平面反射鏡 19 により反射されたのち蛍光体シート 1 上に一次元的に偏光して入射する。なお、光偏光器 18 と平面反射鏡 19 との間には f_0 レンズ 20 等が配置され、蛍光体シート 1 の上を偏光レーザー光が走査した場合に、常に均一なビーム速度を維持するようにされている。

蛍光体シート 1 は、上記の偏光レーザー光の照

電気信号に増幅されたのち、A/D 変換器 25 に入力される。A/D 変換器 25 は、収録スケールファクター設定値 b に従い信号変動幅に適したスケールファクターでデジタル信号に変換される。

なお、本発明における蓄積性蛍光体シートに転写蓄積された支持媒体上の放射性標識物質の位置情報を読み出すための方法について、上記においては先読み操作と本読み操作とからなる読み出し操作を説明したが、本発明において利用することができる読み出し操作は、上記の例に限られるものではない。たとえば、支持媒体上の放射性標識物質の量、およびその支持媒体についての蓄積性蛍光体シートの露光時間が予めわかっているれば、上記の例において先読み操作を省略することも可能である。

また、本発明における蓄積性蛍光体シートに転写蓄積された支持媒体上の放射性標識物質の位置情報を読み出すための方法としては、上記に例示した以外の任意な方法を利用することも当然可能である。

射下において、矢印 21 の方向に移送される。従って、先読み操作におけると同様に蛍光体シート 1 の全面にわたって偏光レーザー光が照射されるようになる。

蛍光体シート 1 は、上記のようにしてレーザー光の照射を受けると、先読み操作におけると同様に、蓄積記録されている放射線エネルギーに比例する光量の輝度発光を発し、この光は本読み用導光性シート 22 に入射する。この本読み用導光性シート 22 は先読み用導光性シート 10 と同様の材質、構造を有しており、本読み用導光性シート 22 の内部を全反射を繰り返しつつ導かれた輝度発光はその射出面から射出されて、光検出器 23 に受光される。なお、光検出器 23 の受光面には輝度発光の波長領域のみを選択的に透過するフィルターが貼着され、光検出器 23 が輝度発光のみを検出するようにされている。

光検出器 23 により検出された輝度発光は電気信号に変換され、前記の増幅率設定値 a に従って感度設定された増幅器 24 において適正レベルの

このようにして得られた試料のオートラジオグラフに対応するデジタル信号は、次に信号処理回路 26 に入力される。信号処理回路 26 ではサンプリング点検出のための走査方向の決定が行なわれる。

以下において、放射性標識物質の混合物を支持媒体上で電気泳動などにより分離展開して得られたオートラジオグラフを例にとって、本発明のデジタル信号処理について説明する。

第2図は、複数種の放射性標識物質が支持媒体上でその長さ方向に二列をもって分離展開された分布列を形成している試料の蓄積性蛍光体シート上に転写蓄積されたオートラジオグラフの例を示している。蓄積性蛍光体シート上のオートラジオグラフは、蓄積転写時において、試料と蓄積性蛍光体シートとが重ね合わせられたため等によって、第2図に示されるような歪みを生じている。

この試料に対して、上述のようにして放射線像変換方法を適用することにより、信号処理回路2'6に入力されたデジタル信号は、蓄積性蛍光体シートに固定された座標系で表わされた番地(x, y)とその番地における信号のレベル(z)とを有しており、その信号のレベルは輝度光の光量に対応している。すなわち、そのデジタル信号は第2図のオートラジオグラフに対応していることになる。従って、信号処理回路2'6には、上記放射性標識物質の位置情報をするデジタル画像データが入力されることになる。

第2図において、蓄積性蛍光体シートに対して水平方向が x 軸方向、垂直方向が y 軸方向であるとすると、その走査方向は、本発明によれば、たとえば次のような段階を経て決定することができる。

まず、デジタル画像データについて、放射性標識物質の一次元的分布方向、すなわち分布列の方向を横断するように、 x 軸方向に数値的に走査することにより、走査領域上の位置(x)とその位

置を読み出して得られたデジタル信号は、信号処理回路2'6において一旦メモリーに記憶される(バッファーメモリーあるいは磁気ディスク等の不揮発性メモリーに記憶される)。信号処理において、デジタル画像データ上を走査するとは、この走査箇所のデジタル信号のみをメモリーから選択的に取り出すことを意味する。

デジタル画像データ上の異なる位置で、すなわち異なる y 座標で少なくとも二回走査することにより、仮想上において各走査領域ごとに第3図の(イ)に示されるようなグラフを得、それらのグラフから上記のようにして、二組以上の放射性標識物質の分布点の組、

$\{(x_{a1}, x_{az}), a = 1, 2, \dots\}$ を得る。

次に、各列ごとに上記の放射性標識物質の分布点を順に通る直線(もしくは折れ線)を得る。得られた直線(もしくは折れ線)を、サンプリング点検出のための走査方向とする。もちろん、各点に対して最小に垂直線または曲線を求めてよい

道における信号のレベル(z)との関係を得る。たとえば、横軸に走査領域上の位置(x)をとり、縦軸に信号のレベル(z)をとったグラフとして考えると、第3図の(イ)に示すようなグラフが得られる。

第3図の(イ)は、放射性標識物質が一定の幅をもって分離展開されている場合のグラフであり、第2図のオートラジオグラフに対応するデジタル画像データ上を上記のように走査することにより得られるグラフを示す。

第3図の(イ)のグラフにおいては、信号のレベルが極大となる領域の各中点(x_{am})を、各列における放射性標識物質の分布点とする。ここで、 a は正の整数であって、走査番号(すなわち、何回目の走査であるか)を表わし、また m は正の整数であって、分布列の番号(この場合には $a = 1$ 、または 2)を表わす。従って上記の x_{am} は、 a 回目の走査で検出された m 番目の分離展開列上の放射性標識物質の分布点を意味する。

なお、本発明の信号処理方法において、蓄積性

蛍光体シートを読み出して得られたデジタル信号は、信号処理回路2'6において一旦メモリーに記憶される(バッファーメモリーあるいは磁気ディスク等の不揮発性メモリーに記憶される)。信号処理において、デジタル画像データ上を走査するとは、この走査箇所のデジタル信号のみをメモリーから選択的に取り出すことを意味する。

すなわち、たとえば、 y 軸上の二座標(y_1 および y_2)を x 軸方向に平行に二回走査することにより、放射性標識物質の分布点の組、

$\{(x_{11}, x_{12}), (x_{21}, x_{22})\}$

の二組を得た場合には、第1列に対するサンプリング点検出のための走査方向は、分布点(x_{11}, y_1)および(x_{21}, y_1)の二点を通る直線とする。第2列に対しても同様にして、分布点(x_{12}, y_1)および(x_{22}, y_1)の二点を通る直線をその走査方向とする。

この x 軸方向の走査は、 y 軸方向に任意の位置で行なうことができる。ただし、二回の走査により、すなわち二分布点でサンプリング点検出のための走査方向を決定する場合には、得られる走査方向ができる限り実際の分離展開列に一致するよう、各走査位置間の間隔はできる限り離れているのが好ましく、走査位置はそれぞれ、放射性標識物質の分離展開列の上端(もしくはその近傍)

および下端（もしくはその近傍）を選ぶのが望ましい。また、上記の走査は、必ずしも平行に走査する必要はないが、好ましくは互いに平行に行なうのがよい。

また、上記の走査は、各列について少なくとも1つの放射性標識物質の分離展開部位にかかるような幅をもって行なう必要がある。すなわち、デジタル画像データ上をy軸方向に走査位置を中心として一定の幅で走査する。走査幅が狭すぎる場合には、放射性標識物質の分離展開部位（分離展開された放射性標識物質が存在している部位）にかかる可能性があるのみならず、たとえ分離展開部位にかかったとしてもその部位における放射性標識物質の分布が偏っている場合には、検出される分布点に誤差を生じる可能性がある。一方、走査幅が広すぎる場合には、検出される放射性標識物質の分布点に誤差が生じることになる。従って、試料によって走査幅を設定することが望ましい。

第3図の（イ）に示されるグラフは、たとえば

い出したのち、各x座標の平均座標を算出し得られたx座標

$$x_{\text{av}} = \frac{\sum x_i}{N}$$

と、x_{av}にある所定の精度内に含まれるx_{av}を提供するy座標y_{av}を前記分布点（x_{av}, y_{av}）とする。

上記の走査位置および走査幅は、測定対象の試料ごとに、そのデジタル信号を信号処理する前に独立して信号処理回路26に入力してもよい。このように用いる試料ごとに走査位置および走査幅を設定することにより、試料の種類、分離展開条件などによって放射性標識物質の一次元的方向の分布が様々に異なっても、放射性標識物質の分布点を正確に検出することができる。

走査回数は、二回より多ければ多いほど検出される放射性標識物質の分布点を増すことができ、それらの分布点を結んで得られる直線（折れ線）をサンプリング点検出のための走査方向とした場合には、放射性標識物質の分布列に一層沿うものとなる。さらに、得られた折れ線を適当な曲線で

一定の走査幅内のデジタル信号をy軸方向に繰り返し取り出して各x座標ごとにその信号のレベルを加算して得られる。さらに、この加算データを閾値処理することも可能である。あるいは、この走査幅内のデジタル信号をx軸方向に繰り返し取り出して、雑音低減のために各y座標ごとに閾値処理したデジタル信号を加算することにより得られる。このときのy座標は走査幅の中央にあたる点を代表値とする。

ここで、閾値処理とは、信号のレベルが一定のレベル値（すなわち、閾値）以上のデジタル信号についてはその信号のレベルを1とし、閾値未満のデジタル信号についてはその信号のレベルを0とすることによって、全てのデジタル信号についてその信号のレベルを1または0で表示する二値化処理をいう。

また、この走査は、次のようにしても行なうことができる。すなはち、上記の走査幅内のデジタル信号をx軸方向に繰り返し取り出して各y座標ごとに信号のレベルが最大となるx座標x_{max}を見

近似することにより、より一層正確にサンプリング点検出のための走査方向を決定することも可能となる。しかしながら、走査回数をふやす結果、信号処理が複雑になり処理時間が長くなるという問題もあるため、走査回数は試料の状態、およびオートラジオグラフ測定における消耗の精度などに応じて決定することが好ましい。

なお、たとえば、放射性標識が付与された核酸その誘導体もしくはそれらの分解物を電気泳動などを用いて常法により支持媒体上で分離展開した試料のオートラジオグラフィーにおいては、二回の走査回数で精度高くサンプリング点検出のための走査方向を決定することが可能である。このとき、走査幅は、各列について2~3個の放射性標識物質の分布（分離展開）部位にかかる幅であるようにするのが好ましい。

上記のようにしてサンプリング点検出のための走査方向を決定することにより、放射性標識物質の一つ一つの分布部位の横幅を3mm程度にまで狭くすることが可能となる。従って、本発明の方

法によれば、分離展開列当りの放射性標識物質の量を減らすことが可能となり、このため、支持媒体当りの分離展開列をふやすことができる。すなわち、一回のオートラジオグラフ測定で、従来の操作により得られていた以上の位置情報を得ることが可能となる。

また、本発明の信号処理において、各走査領域上における放射性標識物質の分布点は、第3図の(イ)のグラフを微分したグラフを得ることにより、その検出が容易になる。すなわち、上記のグラフに微分演算を施すことにより、分離展開列のエッジを強調することができ、従ってその分離展開列の幅方向の両端をデジタル画像データ上で容易に検出でき、放射性標識物質の分布点を、たとえば、両エッジの中点とすることにより簡単に検出することができるからである。

第4図の(イ)は、第3図の(イ)のグラフを微分したグラフを示している。第4図の(イ)のグラフから、各分離展開列のエッジを容易に検出することができる。すなわち、各列における放射

きる。そして、上記のそれぞれの場合において、サンプリング点検出のための走査方向は、前述の方法と同様にして決定することができる。

なお、第2図～第4図により示した上述の例においては、分離展開列が二列である場合について説明したが、本発明の信号処理方法は、この二列に限定されるものではなく、分離展開列などの放射性標識物質の分布列が一列でも、あるいは三列以上の複数列であっても適用することができる。

本発明の信号処理方法により得られた走査方向に沿って、放射性標識物質の分布部位を検出するためのサンプリング点を決定することができる。そして、一次元方向に複数の分布列からなる場合には、さらに決定されたサンプリング点を走査方向上の対応する位置間で比較同定することにより、放射性標識物質の一次元的な位置情報を記号および／または数値として得ることが可能となるものである。

本発明のオートラジオグラフィーにおける信号

性標識物質の分布点は、微分レベル値が正から負に変化するときの各中点(x_{abn})とすることができる。

一方、放射性標識物質がスポット状に分離展開されている場合、分離展開列のズレまたは歪みが著しい場合、および／または上記走査条件(走査位置および走査幅)により、横軸に走査方向上の位置(x)をとり、縦軸に信号のレベル(z)をとったグラフは、第3図の(ロ)に示されるようなグラフとなる。

第3図の(ロ)のグラフにおいては、信号レベルが極大となる各点(x_{bn})を、各列における放射性標識物質の分布点とすることができます。ここで、 b は正の整数であって走査番号を表わし、また n は正の整数であって、列の番号を表わす。

また、第4図の(ロ)は、第3図の(ロ)のグラフを微分したグラフを示している。第4図の(ロ)のグラフにおいては、各列における放射性標識物質の分布点は、微分レベル値が正から負に変化するときの各中点($x_{bn'}$)とすることができます

処理方法は、たとえば、マキサム・ギルバート(Masaki-Gilbert)法などのオートラジオグラフィーを利用したDNAの塩基配列決定法において、非常に有用な方法である。

すなわち、上記のマキサム・ギルバート法は、放射性標識が付与されたDNAをその構成単位である四種類の塩基について各塩基ごとに特異的に切断し、その塩基特異的切断分解物の混合物を電気泳動法により分離展開させることにより得られるオートラジオグラフからDNAの塩基配列を決定する方法であるが、本発明の信号処理方法によれば、どのような塩基特異的切断分解物の組合せであっても、分離展開列のそれぞれについて分離展開方向を見出して、走査方向とすることができます。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明において蓄積性蛍光体シートに転写蓄積された試料中の放射性標識物質の位置情報を読み出すための読み出装置(あるいは読み取装置)の例を示すものである。

1 : 帯積性蛍光体シート、2 : 先読み用読出部、3 : 本読み用読出部、4 : レーザー光源、5 : レーザー光、6 : フィルター、7 : 光偏振器、8 : 平面反射鏡、9 : 移送方向、10 : 先読み用導光性シート、11 : 光検出器、12 : 増幅器、13 : 制御回路、14 : レーザー光源、15 : レーザー光、16 : フィルター、17 : ビーム・エクスパンダー、18 : 光偏振器、19 : 平面反射鏡、20 : f0レンズ、21 : 移送方向、22 : 本読み用導光性シート、23 : 光検出器、24 : 増幅器、25 : A/D変換器、26 : バイナリ出力部である。

特許出願人 富士写真フィルム株式会社
代理人 弁理士 柳川泰男

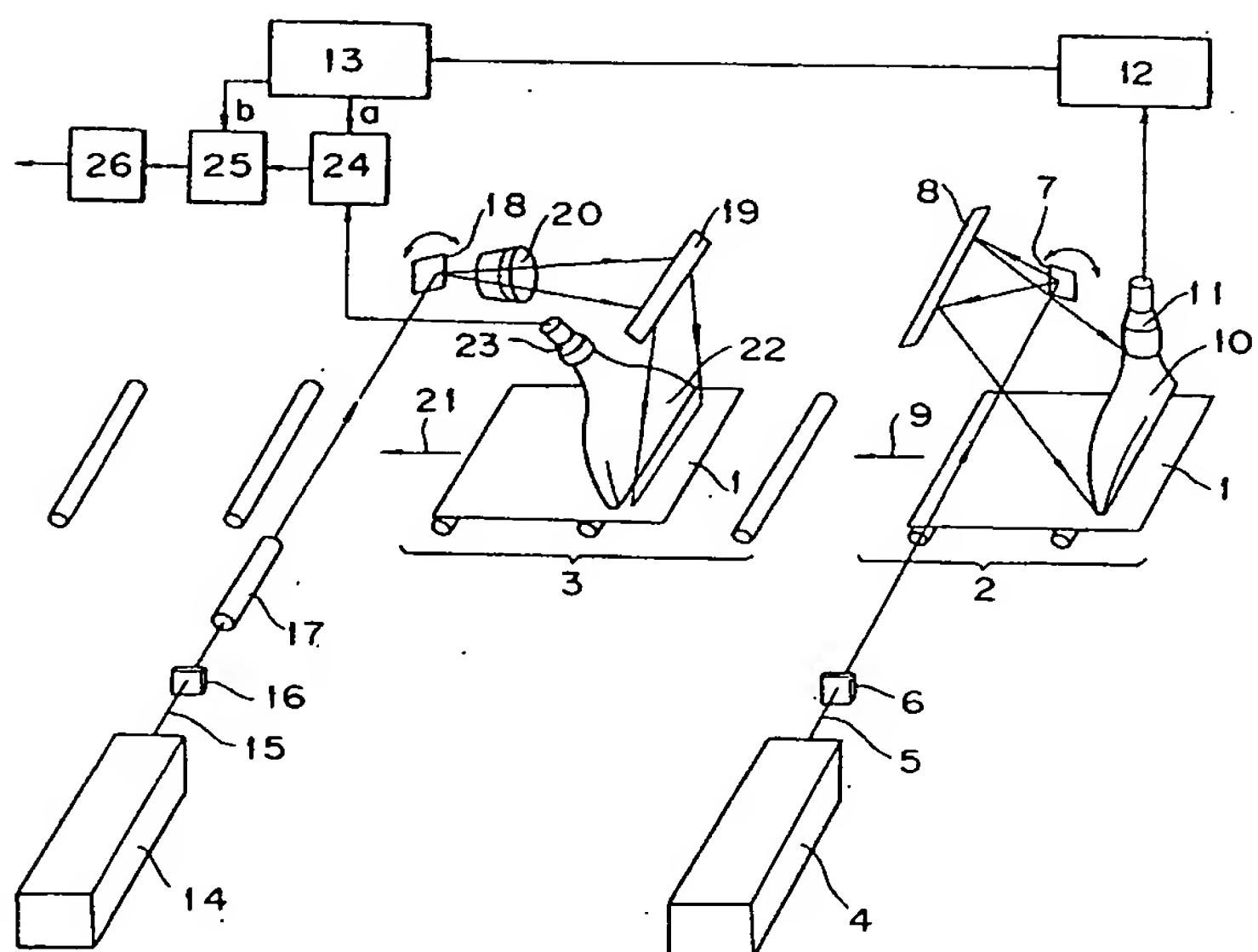
第2図は、放射性標識物質が支持媒体上で分離展開された試料の帯積性蛍光体シート上に転写蓄積されたオートラジオグラフである。

第3図の(イ)および(ロ)は、それぞれ走査上の位置とデジタル信号のレベルとの関係を表わすグラフである。

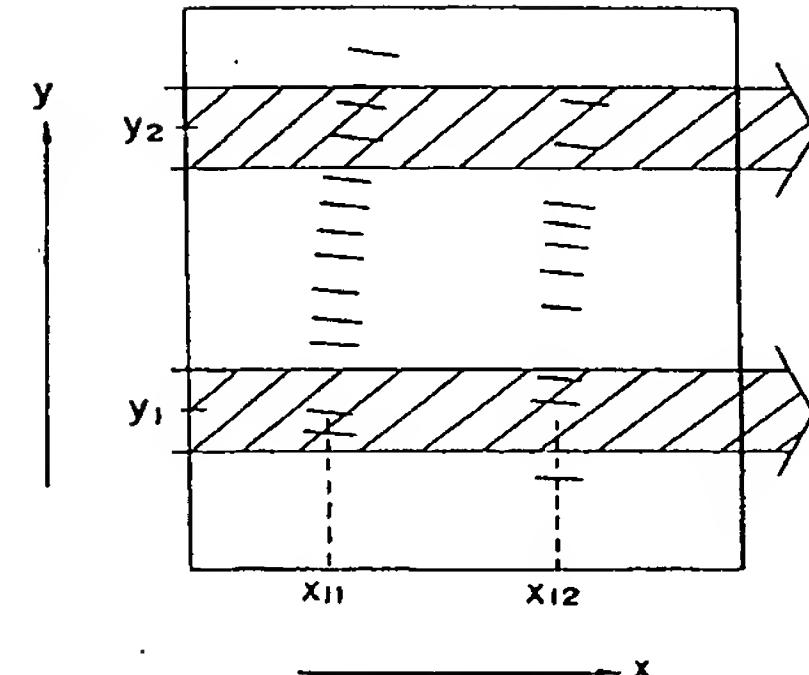
第4図の(イ)および(ロ)は第3図の(イ)および(ロ)のグラフをそれぞれ微分したグラフ

図面の添書(内容に変更なし)

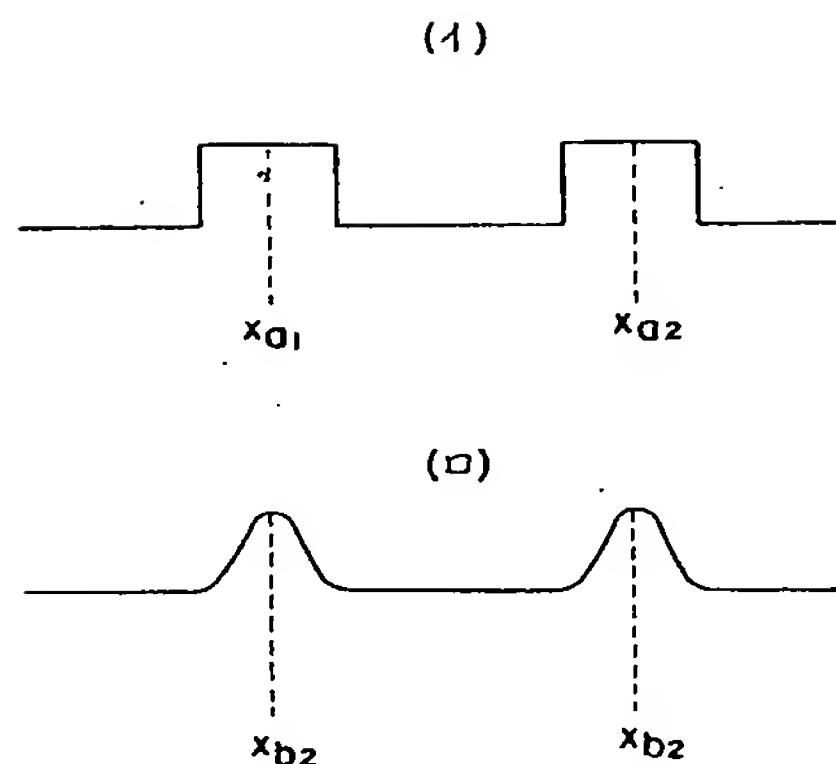
第 1 図



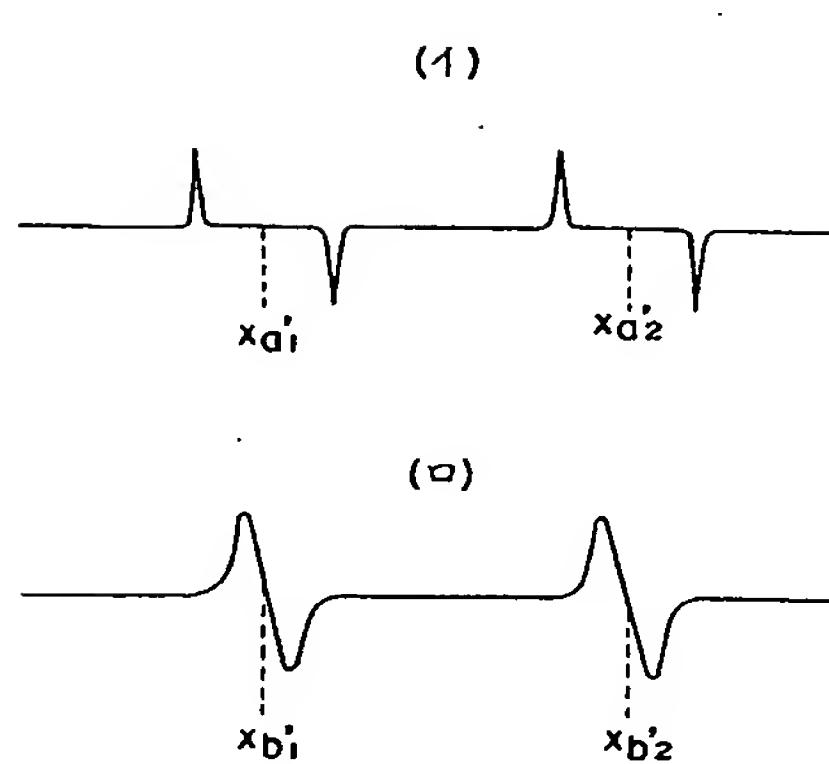
第 2 図



第3図



第4図



手続補正書

昭和58年1月25日

特許庁長官 若杉和夫 殿

1. 事件の表示

58-126529

昭和58年1月8日提出の特許願(8)

2. 発明の名称

オートラジオグラフィーにおける信号処理方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 (520) 富士写真フィルム株式会社

氏名 代表者 大西 實

4. 代理人

住所 東京都新宿区四谷2-14ミツヤ四谷ビル8階
(358)1798/9

氏名 (7467) 井理士 柳川泰男



5. 補正命令の日付 (自発)

6. 補正により増加する発明の数 なし

7. 補正の対象 図面

8. 補正の内容 正式図面を提出する。



手続補正書

昭和58年10月11日

特許庁長官 若杉和夫 殿

1. 事件の表示

昭和58年 特許願第1328号

2. 発明の名称 オートラジオグラフィーにおける信号処理方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所

氏名(名称) (520) 富士写真フィルム株式会社



4. 代理人

住所 東京都新宿区四谷2-14ミツヤ四谷ビル8階
(358)1798/9

氏名 (7467) 井理士 柳川泰男



5. 補正命令の日付 (自発)

6. 補正により増加する発明の数 なし

7. 補正の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の図

図面

8. 補正の内容

別紙の通り

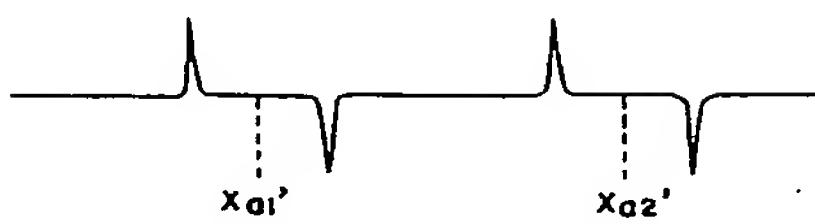
明細書の「発明の詳細な説明」の欄を下記の如く補正致します。

記

	補正前	補正後	
(1)10頁12行目 から同頁13行目	米国特許第3,859,527号明 細書および		(9)28頁20行目 レベルが最大とな る
(2)11頁7行目	一定レベルを有す る		(10)28頁20行目 x座標x → <u>x座標x_{a1}</u>
(3)16頁7行目	記憶	→ <u>記録</u>	(11)29頁1行目 各x座標の平均座 標
(4)16頁10行目	記憶	→ <u>記録</u>	(12)29頁3行目 $x_{11} = \sum_i x_i / N$ → <u>$x_{a1} = \sum_i x_{a1} / N$</u>
(5)25頁19行目	もちろん、各点	→ 削除	(13)29頁4行目 x_{11} に → <u>x_{a1}の</u>
(6)25頁20行目		(一行削除)	(14)29頁4行目 xを → <u>x_{a1}を</u>
(7)26頁1行目		→ 削除	(15)29頁5行目 y座標y ₁₁ を → <u>y座標の平均座標y₁₁</u> を
(8)28頁18行目	すなはち	→ <u>すなわち</u>	(16)29頁5行目 (x_{11}, y_{11}) → <u>(x_{a1}, y_{11})</u>
			(17)図面 第4図の補正図面を添付する。
			以上

第4図

(1)



(2)

